

PAT-NO: DE003742806A1

DOCUMENT-IDENTIFIER: DE 3742806 A1

TITLE: Method and device for producing fluorescence images

PUBN-DATE: July 13, 1989

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

KAPITZA, HANS-GEORG DR

COUNTRY

DE

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

ZEISS CARL FA

COUNTRY

DE

APPL-NO: DE03742806

APPL-DATE: December 17, 1987

PRIORITY-DATA: DE03742806A (December 17, 1987)

INT-CL (IPC): G02B021/16

EUR-CL (EPC): G02B021/16

US-CL-CURRENT: 250/459.1, 359/385

ABSTRACT:

Fluorescence images of extended, large object fields are produced with the aid of a laser scanning microscope. The fluorescence radiation is detected in a transmitted light arrangement with the aid of a condenser (114) whose aperture is larger than the aperture of the low-power scanning objective (low-power finder lens) (112) used for excitation purposes. Extraneous light from an aperture region surrounding the objective (112) is kept away from the condenser (114) by a reflecting cover cap (129). <IMAGE>

⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Off nl gungsschrift
⑪ DE 3742806 A1

⑤ Int. Cl. 4:
G02B 21/16

⑳ Aktenzeichen: P 37 42 806.3
㉑ Anmeldetag: 17. 12. 87
㉒ Offenlegungstag: 13. 7. 89

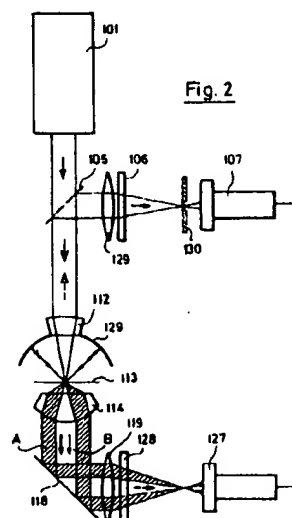
DE 3742806 A1

㉓ Anmelder:
Fa. Carl Zeiss, 7920 Heidenheim, DE

㉔ Erfinder:
Kapitza, Hans-Georg, Dr., 7082 Oberkochen, DE

㉕ Verfahren und Vorrichtung zur Erzeugung von Fluoreszenzbildern

Fluoreszenzbilder ausgedehnter, großer Objektfelder werden mit Hilfe eines Laser-Scan-Mikroskops erzeugt, wobei die Fluoreszenzstrahlung in einer Durchlichtanordnung mit Hilfe eines Kondensators (114) nachgewiesen wird, dessen Apertur größer als die Apertur des zur Anregung benutzten Übersichtsobjektivs (112) ist. Fremdlicht aus einem das Objektiv (112) umgebenden Aperturbereich wird mit einer spiegelnden Abdeckkappe (129) vom Kondensator (114) ferngehalten.



DE 3742806 A1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Erzeugung von Fluoreszenzbildern mit einem das Objekt punktförmig abtastenden Lichtmikroskop, wobei die Fluoreszenzstrahlung in einer Durchlichtanordnung nachgewiesen wird.

In der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie wird überwiegend mit Auflichtanregung der Fluoreszenz gearbeitet, d.h. die nachzuweisende Fluoreszenzstrahlung wird über einen dichroitischen Teilerspiegel aus dem Auflichtbeleuchtungsstrahlengang ausgekoppelt.

In seltenen Fällen, bei denen die Fluoreszenz im Durchlicht beobachtet wird, benutzt man Dunkelfeldkondensoren zur Objektbeleuchtung. Dies hat seine Ursache darin, daß es nicht ohne weiteres möglich ist, das im Durchlichtbetrieb in Richtung auf den Detektor gestreute Anregungslicht im Hellfeldfalle ausreichend zu unterdrücken.

Es ist auch bekannt, Fluoreszenzbilder mit Hilfe von sogenannten Laser-Scan-Mikroskopen zu erzeugen. In Laser-Scan-Mikroskopen wird die Probe durch einen entweder vom Objektiv oder von einem Kondensor punktförmig fokussierten Lichtstrahl abgerastert. Solche Mikroskope sind beispielsweise in der US-PS 44 07 008 oder der Produktinformation W 41-910-d IX/84 "Laser-Scan-Mikroskop" der Anmelderin beschrieben.

Da bei punktweiser Objektabtastung die Intensität des Anregungslichtes im Mittel sehr viel geringer als bei konventioneller mikroskopischer Beleuchtung ist, eignen sich Laser-Scan-Mikroskope gut für die Fluoreszenzmikroskopie und es sind auch schon Verfahren bekannt geworden, bei denen die Fluoreszenz bei Durchlichtanregung im Hellfeld detektiert wurde. Entsprechende Angaben hierzu finden sich in den Artikeln von Wijnaendts van Resandt et al: "Optical fluorescence microscopy in three dimensions: microtomoscopy" im Journal of Microscopy, Vol. 138, April 1985, Seiten 29-34; von H.P. Mansberg und J. Kusnetz: "Quantitative Fluorescence Mikroskopie: Fluorescent Antibody Automatic Scanning Techniques" in The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, Vol. 14 Nr. 3 (1966), Seite 260-273, und von A.F. Slomba et al: "A laser flying spot scanner for use in automated fluorescence antibody instrumentation" im Journal of the Association for the Advancement of Medical Instrumentation, Vol. 6 Nr. 3 (1972), Seite 230-234.

Bei den bekannten Verfahren wird zur Fokussierung des Abtastlichtstrahles ein Objektiv mit hoher Apertur benutzt, um die höhere Auflösung des Laser-Scan-Mikroskops gegenüber einem konventionellen Mikroskop ausnutzen zu können, d.h. Objektiv und Kondensor auf der Anregungs- bzw. Nachweisseite besitzen die gleiche Apertur. Die oben zitierten Autoren betonen außerdem, daß der Nachweis der Fluoreszenz in Auflichtanordnungen gegenüber einer Durchlichtanordnung vorzuziehen sei.

Es sind nun Anwendungsfälle bekannt, bei denen Fluoreszenzmikroskopische Verfahren bisher nicht oder nur schlecht eingesetzt werden können. Wenn z.B. in einem Blutausstrich oder auf Metaphasenplatten mittels Fluoreszenzmarkierter Antikörper aus Tausenden oder Millionen von Zellen oder Chromosomen nur die wenigen herausgefunden werden sollen, die sich durch eine selektive Markierung verraten, dann sind für eine zuverlässige Statistik im Maßstab des Mikroskops riesige Flächen von mehreren Quadratzentimetern zu untersuchen.

Gleiches gilt, wenn in einem Schnellschnitt zuverlässig pathologisch relevante Bereiche über eine Antikörperfluoreszenz identifiziert werden sollen. Auch hier tritt das Problem auf, möglichst große Probenbereiche in möglichst kurzer Zeit fluoreszenzmikroskopisch zu untersuchen. Will man nun Objektive mit niedriger Maßstabszahl verwenden, um die großen objektseitigen Sehfelder abzubilden, dann ist damit in aller Regel auch der Gebrauch niedriger numerischer Aperturen verbunden. Die setzt jedoch die Effizienz des Fluoreszenznachweises stark herab, denn die Fluoreszenzemission aus dem Präparat erfolgt fast isotrop nach allen Richtungen, die numerische Apertur des Objektivs bzw. des Kondensors begrenzt aber den Raumwinkelbereich, unter dem das emittierte Licht eingefangen wird.

Zur Lösung des angesprochenen Problems wurde bereits vorgeschlagen "Superobjektive" mit großer Apertur bei gleichzeitig kleinem Abbildungsmaßstab zu entwickeln und mit diesen Objektiven die Fluoreszenz in Auflichtanordnung und zusätzlichem Einsatz von Restlichtbildverstärkern nachzuweisen. Die Kombination eines Objektivs mit hoher Apertur und einem Restlichtbildverstärker ist jedoch sehr unharmonisch, da die durch die hohe Apertur erzielte optische Auflösung vom Restlichtbildverstärker nicht übertragen werden kann.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Fluoreszenzmikroskopisches Verfahren anzugeben, mit dem möglichst große Objektfelder bei gleichzeitig hoher Effizienz des Fluoreszenznachweises dargestellt werden können.

Ausgehend von einem Verfahren, bei dem das Objekt punktförmig abgerastert und die Fluoreszenzstrahlung in einer Durchlichtanordnung nachgewiesen wird, erfolgt die Lösung der angegebenen Aufgabe durch die im Kennzeichen des Anspruchs 1 angegebenen Merkmale dadurch, daß zur Beleuchtung der Probe ein niederaperturiges Objektiv mit kleinem Abbildungsmaßstab und zum Nachweis der Fluoreszenzstrahlung ein Kondensor hoher Apertur verwendet wird. Besonders gute Ergebnisse ließen sich mit dem Verfahren erzielen, wenn die Apertur des Kondensors mindestens um einen Faktor 1,6 höher als die des Objektivs gewählt wurde.

Mit den angegebenen Maßnahmen läßt sich zumindest für transparente bzw. semitransparente Objekte die Fluoreszenz sehr viel effizienter als in Auflichtanordnungen nachweisen. Da der Kondensor keine abbildenden Eigenschaften besitzen muß, sondern in erster Linie allein die von der Probe emittierte Fluoreszenzstrahlung über einen möglichst großen Raumwinkel sammeln muß, kann hierfür auch ein einfacher linsenloser Kollektor z.B. in der Form eines außenverspiegelten Glaszylinders verwendet werden.

Da die Apertur von Objektiv und Kondensor bei dem erfindungsgemäßen Verfahren unterschiedlich sind, ist es zweckmäßig Fremdlicht, das aus einem das Objektiv umgebenden Aperturbereich in den Kondensor einfallen könnte, durch eine um das Objektiv gelegte Abdeckung abzuschirmen. Besonders vorteilhaft ist es, wenn als Abdeckung ein innenverspiegelter Hohlspiegel benutzt wird. Dieser Hohlspiegel kann zusätzlich dazu dienen, die von der Probe zur Beleuchtungsseite hin emittierte Fluoreszenzstrahlung in sich zurückzuspiegeln, wodurch die Intensität des nachgewiesenen Fluoreszenzlichtes erhöht wird.

Wenn zusätzlich ein zweiter Detektor für die über das Objektiv gesammelte Fluoreszenzstrahlung in einer konfokalen Auflichtanordnung in einem ausgespiegel-

ten Zweig im Auflichtstrahlengang des Mikroskops angeordnet wird, dann ist es möglich, zusätzliche Informationen über die fluoreszierenden Probenbereiche zu gewinnen: Die Kombination eines normalen Fluoreszenzbildes mit einem Fluoreszenzbild, das nur die konfokal isolierten Details zeigt, gibt einen Hinweis auf die Orientierung z.B. von Zellbestandteilen in einer Zelle. Derartige Informationen lassen sich mit anderen mikroskopischen Verfahren nicht oder nur sehr schwer gewinnen.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindungen werden nachstehend anhand der Figuren der beigefügten Zeichnungen näher erläutert:

Fig. 1 ist eine Prinzipskizze eines bekannten, in Auflicht und Durchlicht zu benutzenden Laser-Scan-Mikroskops;

Fig. 2 ist eine vereinfachte Darstellung des Teils des Mikroskops aus Fig. 1, der gemäß der Erfindung modifiziert wurde;

Fig. 3 ist die Prinzipskizze einer alternativen Ausführungsform für den in Fig. 2 dargestellten Durchlichtstrahlengang;

Fig. 4 zeigt eine Skizze des Bildes einer Probe, die gleichzeitig fluoreszenzmikroskopisch im Durchlicht und in einer konfokalen Auflichtanordnung beobachtet wurde;

Fig. 5a und 5b sind Bilder, die

- a) in herkömmlicher Auflichtfluoreszenzdarstellung und
- b) in Durchlichtfluoreszenzdarstellung mit einer ersten Objektiv-Kondensor-Kombination gemäß der Erfindung gemacht wurden.

Fig. 6a und 6b sind Bilder, die

- a) in herkömmlicher Auflichtfluoreszenzdarstellung und
- b) in Durchlichtfluoreszenzdarstellung mit einer zweiten Objektiv-Kondensor-Kombination gemäß der Erfindung gemacht wurden.

In Fig. 1 ist ein Laser-Scan-Mikroskop dargestellt, wie es beispielsweise in der eingangs genannten Produktinformation W 41-910-d beschrieben ist.

Der Strahl eines Argon-Lasers (1) wird nach Umlenkung an dem Spiegel (2) von einer Teleskopoptik (3, 4) aufgeweitet und einem Abtastsystem bestehend aus zwei senkrecht zueinander verschwenkbaren Spiegeln zugeführt. Der von diesen Spiegeln zyklisch abgelenkte Lichtstrahl wird dann von einem Strahlteiler (11) in den Beobachtungsstrahlengang eines Mikroskops eingespiegelt und von einem Objektiv (12) auf die Probe (13) fokussiert. Die Linse (9) dient zur Abbildung des Abtastsystems (8) in das Objektiv (12). Mit (22) und (23) sind Lampe und Kollektor eines Hilfsbeleuchtungssystems bezeichnet, das mittels eines weiteren Strahlteilers (10) koaxial dem Strahl des Lasers (1) überlagert wird. Dies ermöglicht eine konventionelle mikroskopische Beobachtung des Objektes (13) über den vereinfacht dargestellten Beobachtungsstrahlengang bestehend aus einer Tubuslinse (24), einem Umlenkprisma (25) und einem Okular (26).

Zur rastermikroskopischen Darstellung des Objekts (13) ist ein erster Detektor (7) im Auflichtstrahlengang vorgesehen, der hinter einer Linse (29) und einem Filter (6) angeordnet ist und beispielsweise die von der Probe emittierte und vom Objektiv (12) gesammelte Strahlung nach Rückführung über die Ablenkungseinheit (8) nachweist. Der Detektor (7) befindet sich in einem durch den Strahlteiler (5) zwischen der Aufweitungsoptik (3/4) und der Abtasteinrichtung (8) ausgespiegelten Teil-

strahlengang. Der Strahlteiler (5) ist ebenso wie die Strahlteiler (10) und (11) dichroitisch ausgebildet.

Zum Nachweis des von der Probe (13) vorwärts in Strahlrichtung gestreuten Lichtes bzw. der Fluoreszenzstrahlung im Durchlicht ist ein zweiter Detektor (27) vorgesehen. Dieser befindet sich ebenfalls in einem durch den Strahlteiler (18) aus dem Durchlicht-Hilfsbeleuchtungsstrahlengang des Mikroskopes ausgespiegelten Teilstrahlengang hinter einer Linse (19). Der Strahlengang der Durchlicht-Hilfsbeleuchtung besteht aus einer Lampe (21), einem Kollektor (20) einer Linse (17), einem Umlenkspiegel (16) und einem Kondensor (14) unterhalb der Probe (13). Wenn mit dem Detektor (27) Fluoreszenzstrahlung nachgewiesen werden soll, dann läßt sich die Laserstrahlung durch ein zwischen dem Kondensor (14) und dem Detektor (27) eingefügtes Filter (15) unterdrücken.

Zur Fluoreszenzdarstellung ausgedehnter Probenbereiche bei hoher Effizienz ist nun erfindungsgemäß vorgesehen, das in Fig. 1 dargestellte, bekannte Laser-Scan-Mikroskop wie in Fig. 2 skizziert zu modifizieren: Anstelle des Objektivs (12) ist ein Übersichtsobjektiv (112) mit kleinem Abbildungsmaßstab und geringer Apertur wie beispielsweise das Objektiv Epiplan $4 \times / 0,1$ oder das Objektiv Plan-NEOFLUAR $5 \times / 0,15$ der Anmeldeinrichtung verwendet. Um dieses Objektiv herum ist eine Fremddichtabschirmung (129) gelegt, die verhindert, das Umgebungslicht in den unter der Probe (113) angeordneten Kondensor (114) einfällt. Der Kondensor (114) besitzt eine Apertur, die größer als die des Objektivs (112) ist. Beispielsweise kann hierfür der von der Anmeldeinrichtung ebenfalls angebotene Kondensor mit der Bezeichnung "Achromatisch-aplanatischer Systemkondensor" verwendet werden, der je nach Zuschaltung einer Frontlinse eine Einstellung der Apertur zwischen 0,24 und 0,9 zuläßt.

Zur Unterdrückung der Anregungswellenlänge des Lasers (101) von 488 nm ist im Durchlichtstrahlengang zwischen dem Strahlteiler (118) (der dem Strahlteiler (18) in Fig. 1 entspricht) und dem Photomultiplier (127) ein Sperrfilter in Form von zwei Kantenfiltern LP 520 von zusammen 2 mm Dicke gesetzt.

Wie aus der schraffierten Darstellung des vereinfacht gezeichneten Durchlichtstrahlenganges hervorgeht, sammelt der Kondensor (114) nicht nur die unter dem Aperturwinkel des Objektivs von der Probe vorwärts gestreute Fluoreszenzstrahlung, sondern auch Strahlung aus dem sehr viel größeren, gestrichelt dargestellten Aperturbereich (A). Wenn die Apertur des Kondensors etwa um einen Faktor 1,6 über der Apertur (B) des Objektivs (112) liegt, so läßt sich die durch diese Maßnahme erreichte Steigerung der Empfindlichkeit des Nachweises schon deutlich wahrnehmen. Bei einem Unterschied der Aperturen etwa um den Faktor 3 steigert die Nachweisempfindlichkeit um ca. eine Größenordnung. Eine nochmalige Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit wird durch eine Verspiegelung der Innenseite der sphärischen Abdeckung (129) erzielt. Denn damit wird auch ein Großteil der beleuchtungsseitig von der Probe (113) emittierten Fluoreszenzstrahlung zum Kondensor (114) reflektiert und in Vorwärtsrichtung, d.h. im Durchlichtstrahlengang nachgewiesen.

Die Fig. 5a stellt das Fluoreszenzbild einer Probe dar, wie es erhalten wird, wenn man nur die Fluoreszenzstrahlung aus dem Aperturbereich (B) des Objektivs (112) in Auflicht mit dem Detektor (107) in Fig. 2 zur Bilddarstellung benutzt. Für die Aufnahme wurde ein Übersichtsobjektiv $4 \times / 0,1$ benutzt.

Das in Fig. 5b dargestellte Bild wurde bei Vorwärtsdetektion der Fluoreszenz mit einem Kondensor (114) mit einer Apertur von 0,6 aufgenommen, wobei die Fluoreszenzanregung mit dem bereits genannten Objektiv $4 \times 0,1$ Pol erfolgte. Wie man sieht, läßt sich über das relativ große Bildfeld von $2,4 \text{ mm} \times 2,4 \text{ mm}$ eine deutliche Verbesserung der Bildqualität nach der Darstellungsmethode bei Vorwärtsdetektion (Fig. 5b) erkennen. Noch drastischer ist der Unterschied in der Bildqualität zwischen den Fig. 6a und 6b zu erkennen. Das Bild nach Fig. 6a wurde mit einem Objektiv $1,25 \times 0,04$ in Auflichtfluoreszenzdarstellung durch das Objektiv hindurch aufgenommen, während das Bild in Fig. 6b bei Vorwärtsdetektion mit Hilfe eines Kondensors mit einer Apertur von 0,32 aufgenommen wurde.

Da es zur Erzielung des gezeigten Effektes im wesentlichen darauf ankommt, die Fluoreszenzstrahlung in Vorwärtsrichtung in einem möglichst großen Raumwinkelbereich zu erfassen, kann anstelle eines aus Linsen bestehenden Kondensors (114) die in Fig. 3 gezeigte alternative Nachweiseinrichtung verwendet werden. Sie besteht aus einem an die Unterseite des Objektträgers (113) immigrierten, fluoreszenzfreien Glaszylinder (130), dessen Außenseiten verspiegelt sind. Das von der Probe in den Glaszylinder (130) eintretende Fluoreszenzlicht wird durch den Glaszylinder gesammelt und gelangt nahezu vollständig zu einem hinter dem Glaszylinder angeordneten Photomultiplier (132), vor den ein Filter (131) zur Unterdrückung der Anregungswellenlänge gesetzt ist.

Das in Fig. 4 dargestellte Bild erhält man, wenn man gleichzeitig im Aufbau nach Fig. 2 die mit dem Detektor (127) in Vorwärtsrichtung nachgewiesene Fluoreszenzstrahlung und die von dem Detektor (107) in einer konfokalen Auflichtanordnung nachgewiesene Fluoreszenzstrahlung zur Bilderzeugung verwendet. Die konfokale Anordnung läßt sich dadurch erreichen, daß man vor den Detektor (107) eine Blende (130) mit punktförmiger Öffnung in einer zur Objektebene (113) konjugierten Ebene vorschaltet.

Mit Hilfe der konfokalen Anordnung wird eine Tiefendiskriminierung im Objekt erreicht, so daß das vom Signal des Detektors (107) erzeugte Fluoreszenzbild nur Detailbereiche der Probe, jedoch in fester räumlicher Relation zu den mit dem Detektor (127) nachgewiesenen fluoreszierenden Probenbereichen zeigt.

Die beiden Bilder können auf einem gemeinsamen Monitor (133) in verschiedenen Farben dargestellt werden, so daß die konfokal isolierten Details (134) der Probe z.B. rot innerhalb einer grünen Übersichtsdarstellung (135) eingebettet erscheinen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Erzeugung von Fluoreszenzbildern mit einem das Objekt punktförmig abtastenden Lichtmikroskop, wobei die Fluoreszenzstrahlung in einer Durchlichtanordnung nachgewiesen wird, dadurch gekennzeichnet, daß zur Beleuchtung der Probe (113) ein niederaperturiges Objektiv (112) mit kleinem Abbildungsmaßstab und zum Nachweis der Fluoreszenzstrahlung ein Kondensor (114) hoher Apertur verwendet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Objektiv mit einer Apertur kleiner gleich 0,5 und ein Kondensor mit einer Apertur größer gleich 0,5 gewählt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,

daß die Apertur des Kondensors (114) mindestens um einen Faktor 1,6 höher als die Apertur des Objektivs (112) gewählt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein Objektiv mit einer Apertur kleiner gleich 0,2 und gleichzeitig ein Kondensor (114) mit einer Apertur größer gleich 0,6 verwendet wird.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die beleuchtungsseitig aus der Probe (113) austretende Fluoreszenzstrahlung in einem das Objektiv (112) umgebenden Aperturbereich in sich zurückgespiegelt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Fremdlicht aus einem das Objektiv (112) umgebenden Aperturbereich abgeschirmt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich die über das Objektiv (112) gesammelte Fluoreszenzstrahlung in einer konfokalen Auflichtanordnung nachgewiesen wird und beide Fluoreszenzbilder nacheinander bzw. gleichzeitig überlagert dargestellt werden.

8. Mikroskop zur punkweisen Abtastung von Objekten mittels eines durch ein Objektiv (112) fokussierten Laserstrahles und einer Einrichtung zur Detektion der von der Probe emittierten Fluoreszenzstrahlung, wobei der Detektor (127) der Einrichtung im Durchlichtstrahlengang des Mikroskopes angeordnet ist, dadurch gekennzeichnet, daß zur Fluoreszenzdarstellung ausgedehnter Probenbereiche ein Objektiv (112) mit geringer Apertur und kleinem Abbildungsmaßstab eingesetzt ist und auf der Durchlichtseite eine Lichtsammelnde Einrichtung (Kondensor 114, 130) mit höherer Apertur angeordnet ist.

9. Mikroskop nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Apertur von Objektiv (112) und Kondensor (114) mindestens um einen Faktor 1,6 unterscheiden.

10. Mikroskop nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine die höhere Apertur des Kondensors (114) gegen Fremdlicht schützende Abdeckung (129) vorgesehen ist.

11. Mikroskop nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Abdeckung (129) ein um das Objektiv (112) gelegter Hohlspiegel ist.

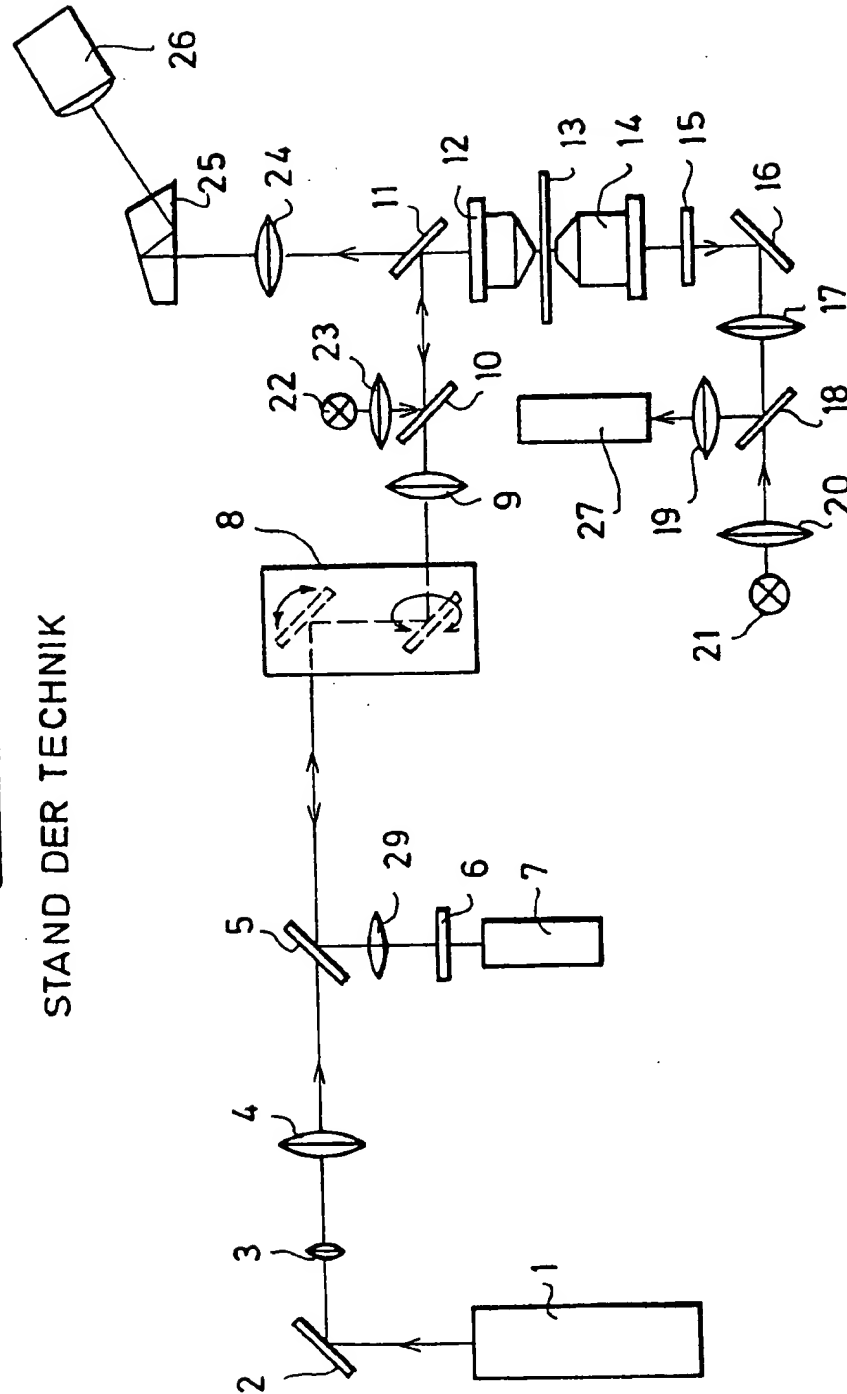
12. Mikroskop nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß ein zweiter Detektor (107) für Fluoreszenzstrahlung in einem ausgespiegelten Zweig im Auflichtstrahlengang hinter einer Blende (130) angeordnet ist, die sich in einer zur Objektebene (113) konjugierten Ebene befindet.

3742806

Nummer: 37 42 806
 Int. Cl. 4: G 02 B 21/16
 Anmeldetag: 17. Dezember 1987
 Offenlegungstag: 13. Juli 1989

Fig. 1

STAND DER TECHNIK

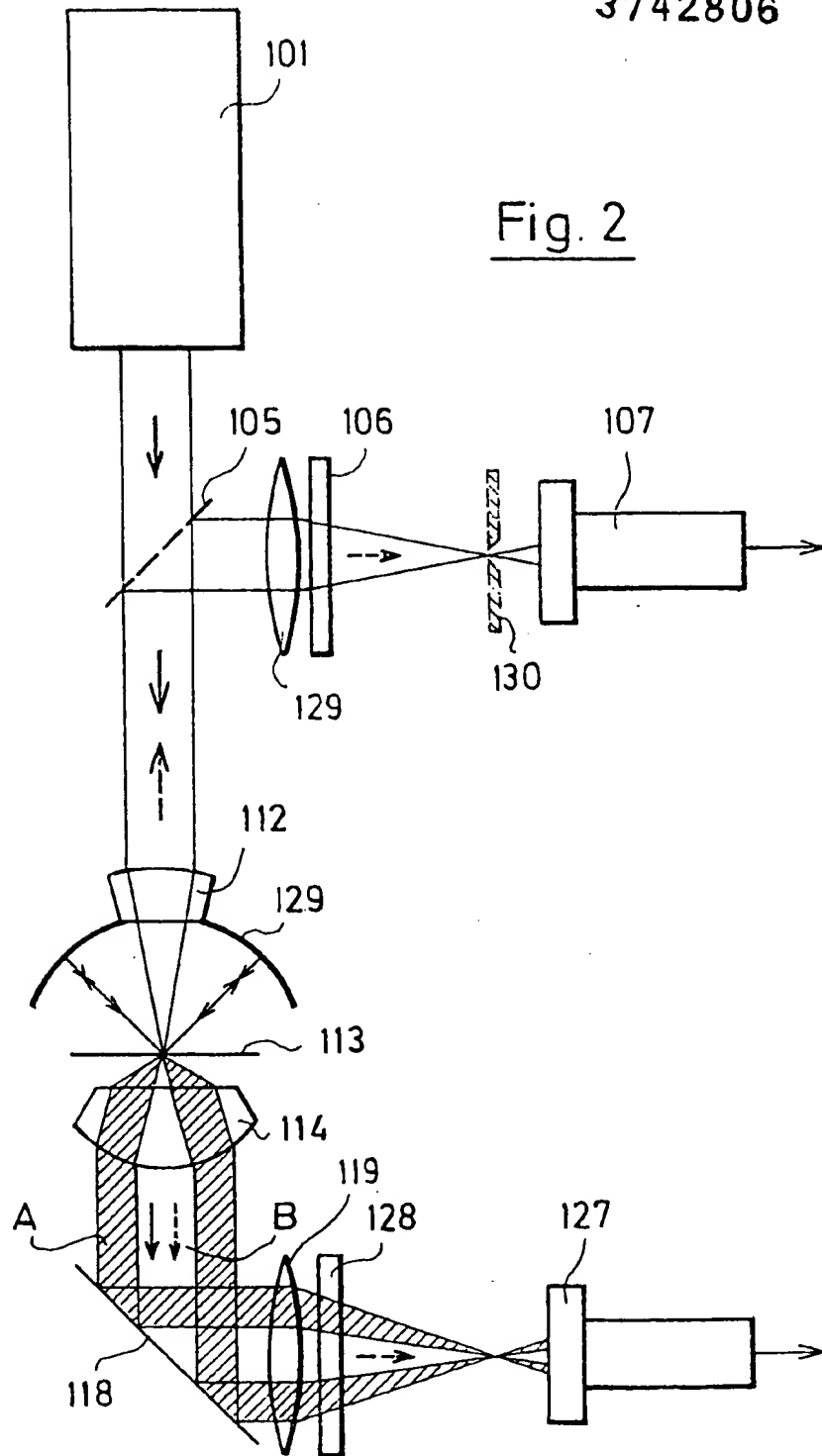


908 828/24

B

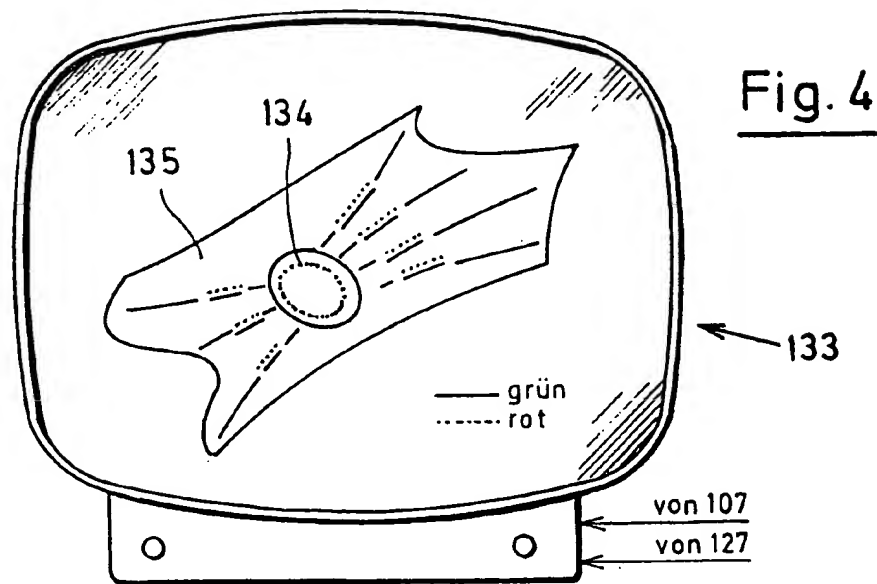
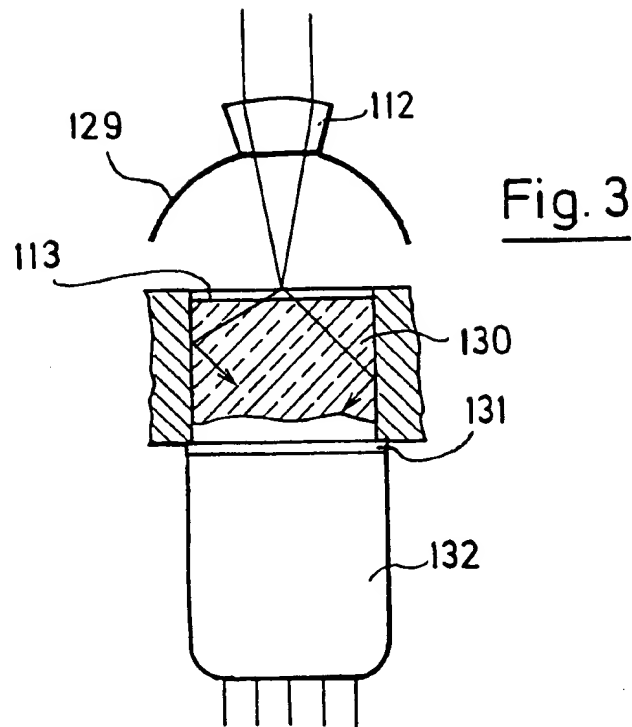
3742806

Fig. 2



14

3742806



BEST AVAILABLE COPY

Fig.: 151-171

15*

3742806

Fig. 5a

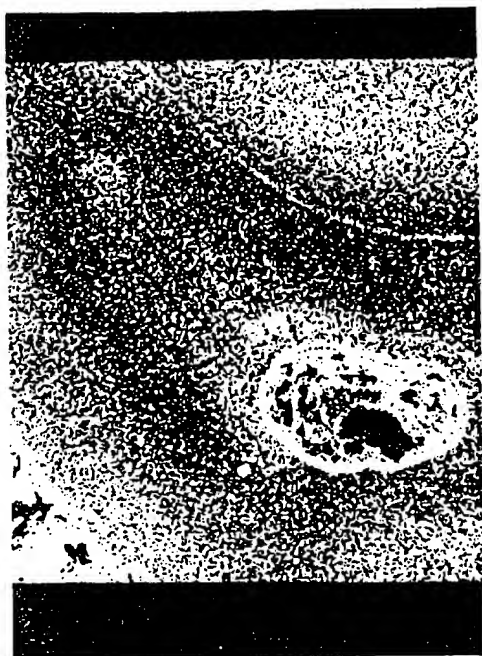


Fig. 5b



Fig. 6a



Fig. 6b

